



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین

دانشکده پیراپزشکی

پایان نامه جهت اخذ در رشته بیوتکنولوژی پزشکی

عنوان:

**بررسی ارتباط الگوی متیلاسیون پروموتور و بیان ژن SMG1 با پیش آگهی در
بیماران لوسمی میلوئیدی حاد**

استاد راهنما:

دکتر مهدی آزاد

اساتید مشاور:

دکتر محمدحسین احمدی

دکتر سعید محمدی

نگارش:

ندا کرمی

۱۳۹۹

چکیده

سابقه و هدف: متیلاسیون‌های نابجای DNA، از جمله تغییرات اپی‌ژنتیکی هستند که در پاتوژنز سرطان شناخته شده‌اند و می‌توانند نقشی اساسی در پیشرفت سرطان‌ها و پیش‌آگهی آن‌ها داشته باشند. ژن SMG1 عضوی از خانواده فسفواینوزیتید ۳-کینازها است و به عنوان ژن مهارکننده تومور عمل می‌کند و متیلاسیون نابجای آن می‌تواند در بروز و پیشرفت بدخیمی‌ها نقش داشته باشد. این مطالعه با هدف ارزیابی وضعیت متیلاسیون پروموتور ژن SMG1 و ارتباط آن با میزان بیان ژن مذکور در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد بستری در بیمارستان شریعتی، تهران، انجام شد. در این مطالعه بیماران با تشخیص قطعی لوسمی میلوئیدی حاد با نتایج فلوسایتومتری و بررسی‌های سیتوژنتیک و اطلاعات خون محیطی و مغز استخوان مندرج در پرونده بیمار، مورد مطالعه قرار گرفتند. **روش بررسی:** در این مطالعه ۱۸ فرد مبتلا به AML و ۵ فرد سالم (گروه کنترل) شرکت کردند. نمونه‌های خون در لوله‌های ضدانعقاد خون جمع‌آوری شدند. DNA، استخراج شده و با روش بی‌سولفیت تحت تیمار قرار گرفت و سپس PCR خاص متیلاسیون (Methylation-Specific PCR) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام شد. RNAهای کلی سلول‌های بیمار نیز استخراج شده و cDNAهای مرتبط سنتز شدند. سپس، سطح بیان ژن SMG1 با استفاده از quantitative real time PCR مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که جزایر CpG پروموتور ژن SMG1 بیماران در بدو مراجعه و تشخیص بیماری در مقایسه با گروه نرمال هاپومتیله است ($P=0/002$). میزان بیان ژن SMG1 در بدو تشخیص $0/464 \pm 0/028$ بود، در حالی که این مقدار در بیماران تحت درمان و بهبودیافته به ترتیب $0/973 \pm 0/174$ و $0/685 \pm 0/107$ بود. در بیماران تحت درمان، با هر واحد افزایش در تغییر بیان ژن SMG1، تعداد گلبول‌های سفید کاهش می‌یابد ($P<0/0001$) و با هر واحد افزایش در تغییر بیان ژن SMG1، میزان هموگلوبین افزایش می‌یابد ($P<0/0001$). همچنین در مرحله بهبودی، با هر واحد افزایش در تغییر بیان ژن SMG1، میزان هموگلوبین افزایش می‌یابد ($P=0/019$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که الگوی متیلاسیون پروموتور و میزان بیان ژن SMG1 در پاتوژنز لوسمی میلوئیدی حاد نقش داشته و می‌تواند به عنوان یک فاکتور پیش‌آگهی‌کننده در لوسمی میلوئیدی حاد عنوان شود.

کلید واژه‌ها: لوسمی میلوئیدی حاد، SMG1، متیلاسیون DNA، مطالعات پیگیری.

Abstract:

Background: Aberrant DNA methylations are among the epigenetic changes known in the pathogenesis of cancer and can play a key role in the progression and prognosis of cancers. The SMG1 gene is a member of the phosphoinositide 3-kinase family and acts as a tumor suppressor gene, and its improper methylation can contribute to the development and progression of malignancies. The aim of this study was to evaluate the methylation status of SMG1 gene promoter and its correlation with the expression of this gene in patients with acute myeloid leukemia (AML) admitted to Shariati Hospital, Tehran. In this study, patients with definitive diagnosis of AML with flow- cytometry and cytogenetic examinations and peripheral blood and bone marrow information in the patient file were studied.

Material and methods: In this study 18 individual with AML and 5 healthy individual (control group) participated. Blood samples were collected in anticoagulant tubes. DNA was extracted and treated with bisulfite method and then methylation-specific PCR was performed using specific primers. Total RNAs of patient cells were also extracted and related cDNAs were synthesized. Then, the expression level of SMG1 gene was evaluated using quantitative real time PCR.

Results: The results of this study showed that the CpG island of the SMG1 gene promoter in patients at the time of referral and diagnosis are hypomethylated compared to the normal group ($P=0.002$). The expression level of SMG1 gene was 0.464 ± 0.0828 at the time of diagnosis, while this value was 0.973 ± 0.1746 and 0.685 ± 0.107 in the undergoing treatment and in-remission patients, respectively. In patients undergoing treatment, with each unit increase in change of expression of SMG1 gene, the number of WBC decreased ($P<0.0001$) and with each unit increase in change of expression of SMG1 gene, the amount of hemoglobin increased ($P<0.0001$). Also, in the remission phase, with each increase in change of expression of SMG1 gene, the amount of hemoglobin increases ($P=0.019$).

Conclusion: The results of this study showed that the pattern of promoter methylation and the expression of SMG1 gene have a role in the pathogenesis of AML and can be a prognostic factor in AML.

Keywords: Acute Myeloid Leukemia, SMG1, DNA Methylation, Follow-Up Studies.



Qazvin University of Medical Sciences
School of Paramedical Sciences
Thesis of receiving degree in medical biotechnology

Title:

Evaluation the correlation between *promoter* methylation pattern
and expression of SMG1 gene with prognosis in patients with
Acute Myeloid Leukemia

Supervisor:

Dr. Mehdi Azad

Advisors:

Dr. Mohammad Hosein Ahmadi

Dr. Saeed Mohammadi

Writing:

Neda Karami

2021